Abh. Naturw. Verein Würzburg	Band 37/38	S. 131 – 163	1996/97

Invasionsverhalten und Reproduktionserfolg der Milbe *Varroa jacobsoni* in Abhängigkeit zur Zellverdeckelungsdauer der Honigbiene *Apis mellifera*

DIRK PERNER

Zusammenfassung

Die ektoparasitische Milbe *Varroa jacobsoni* läßt sich zur Reproduktion in Brutzellen der Honigbienen *Apis cerana* oder *Apis mellifera*, ihrem phylogenetisch neuen Wirt, verdeckeln. Die einzeln im Abstand von 30 h gelegten Eier müssen zum Überleben bis zum Schlupf der Biene (etwa 11,8 Tage nach Verdeckelung) das Adultstadium erreicht haben.

Das Ziel meiner Arbeit war es, den Reproduktionserfolg in nur einer Milbengeneration bei Bienenzuchtlinien innerhalb der *Apis mellifera carnica* mit unterschiedlichen Verdeckelungsdauern zu vergleichen.

In 13 Versuchen transferierte ich Brutwabenstücke aus Bienenvölkern mit verschiedenen Verdeckelungsdauern in ein Volk mit hohem Parasitenbefall. Ein Wäbchen jeder Herkunft diente nach der Zellverdeckelung zur Feststellung der Befallsdichte (Milben pro Zellen) von *Varroa*, das zweite Wäbchen lieferte nach dem Schlupf der Bienen die Endpopulation des Parasiten (Milben pro Bienen). Aus dem Verhältnis der beiden Populationsgrößen ergab sich der mittlere Reproduktionserfolg.

Die lineare Regression von Verdeckelungsdauer und Reproduktionserfolg war leicht positiv. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, daß für die Zucht eine weitere Verkürzung der Verdeckelungsdauern wünschenswert wäre. Neben anderen Faktoren wäre diese ein Beitrag in Richtung einer *Varroa*-resistenten Biene.

Die Beobachtungen von Milben auf Brutzellarealen ergaben, daß die Milben bestimmte Zellen bevorzugen. Die Positionen zweier Milben in einer kleinen Kammer waren nicht signifikant unterschiedlich von der Zufallsverteilung, ebensowenig orientierten sie sich nach möglichen Kairomonen oder Pheromonen von Bienen, Bienenlarven oder anderer Milben.

Die Ergebnisse unterstützen die Hypothese, daß die Milben bei der Wirtsfindung eher auf Chemokontaktperzeption und mechanische Stimuli angewiesen sind. Die Ergebnisse beider Versuchsansätze belegen, daß *Varroa* Brutzellen gleicher Larvenattraktivität unabhängig von der Invasion eines anderen Artgenossen befällt.

Summary

The adult female *Varroa* mite parisitizes adult bees in its phoretic phase. Its reproductive stage is closely linked to the capped period of drone and worker broods. Propably triggered by chemical stimuli of the developing larva and structural features of the cell rim, the mother mite enters the cell during the 14 h before capping by the nurse bees occurs. Since ontogenesis of the Varroa offspring must be completed before the time of emergence of the adult bee, the time from cell capping to emergence appears to be critical to the reproductive success of the mites. The *Varroa* mother lays only egg at a time, in 30h-intervals. On average she has 0.8 female offspring per reproductive cycle.

The goal of my study was to examine the reproductive success in one mite generation, and to compare its repproductive success between bee strains with different capped period durations, within the race *Apis mellifera carnica* I used three colonies from two breeding programs selected for shorter development time (11.5 days in May), plus tow colonies which were chosen for long capped period (11.9 days).

The mite population in bee broods with longer capped period was expected to grow faster compared to those in bee broods with shorter capped period.

For each colony, the time period of capping of about 50 cells was individually recordet and averaged several times over the season. The time of emergence was registered by plastic numbers melted onto the cell cap. The capped period increased over the season.

In the main experimental procedure, I combined broods containing larvae of approximately the same age from the various test colonies in one colony which was highly infested with *Varroa*. In this new experimental setup, control of several other factors that may account for the parasite's reproduction was guaranteed.

Every experiment included four pieces of transferred brood, two from each source colony. One randomly selected comb (test comb) of each source colony was examined 8 days after cell capping by opening each cell and collecting the mites and eventual sterile mites. The distribution of the numbers of cells occupied bay no, one, two or more mites fits to a geometric distribution, a hint on random selection of the cells by the mites.

A second one, the experimental comb, was placed in cage in a climate chamber (34 °). After emergence of all bees, the total number of mites was determined. For each experiment, the relative reproductive rate was estimated by the population ratio of the test and experimental combs.

The regression line of the reproductive success with the duration of the capped period as the independent variable was slightly positive but not significant. First, the differences in capped period durations were not vera big, and the breeding is not yet advanced enough to affect the development time of the second female offspring. Second, the variance of the data is rather high, propably due to non-uniform spacial invasion patterns of the mite on the test and experimental comb.

In a second experimental complex I directly observed the behaviour of mites on a brood comb and in olfactory test chambers. Both were placed without any adult bees in a climate chamber and illuminated with red light, which the mites don't perceive. The analysis of the recorded individual tracks of mites on the cell rims dhowed that the mites

prefer distinct cells. After placing the test comb back in its colony, I could observe in all 5 cases that the preferred cells were capped earlier, which showed that they were older.

In another experiment, the positions of two mites were recorded every 10 s in a circular observation chamber with 1 cm diameter. Their spatial distribution over the 15 min-periods was not significantly different from random, so the mites appeared not to be attracted to or repelled each other.

In yet another setup, one mite was placed in a observation chamber that was connected to two air supplies on opposite sides. One air flow was led over bees, larvae or other mites, and thus contained possible pheromones and kairomones, like aliphatic esters. The opposite side provided pure air. Again, the distribution of the mites was not significantly different from random. Probably, pure chemical orientation plays only a minor role in the life cycle of *Varroa*, and chemical stimuli are only percieved in combination with others like mechanical ones.

Overall, I showed that the breeding efforts for a shorter capped period are not yet advanced enough to show a mesurable effect on reproductive success of *Varroa*. At least within *A.m.carnica*, the capped period can be only factor among others important to combat *Varroa*. Conspecific mites appeared to be neither repellent nor attractive with respect to conspecifics.

Die vorliegende Arbeit stellt die verkürzte Fassung meiner Diplomarbeit dar, welche 1994 am Institut für Bienenkunde in Oberursel (Universität Frankfurt) unter der Betreuung von Dr. S. Fuchs und am Zoologischen Institut II der Universität Würzburg unter der Betreuung von Prof. W.H. Kirchner entstand.

1 Einleitung

1.1 Biologie von *Varroa jacobsoni*

Wirts-Parasit-Verhältnisse sind Wechselbeziehungen zweier oft verwandtschaftlich wenig nahestehender Arten. Im Laufe der Evolution wurde auf der Seite des Parasiten auf trophische Ausbeutung, auf der des Wirtes aber auf Abwehrmechanismen selektiert, gegen die der Parasit wiederum seinerseits Abwehrmaßnahmen entwickelt. Die Selektion läuft in Richtung Stabilisierung des gegenseitigen Kräfteverhältnisses.

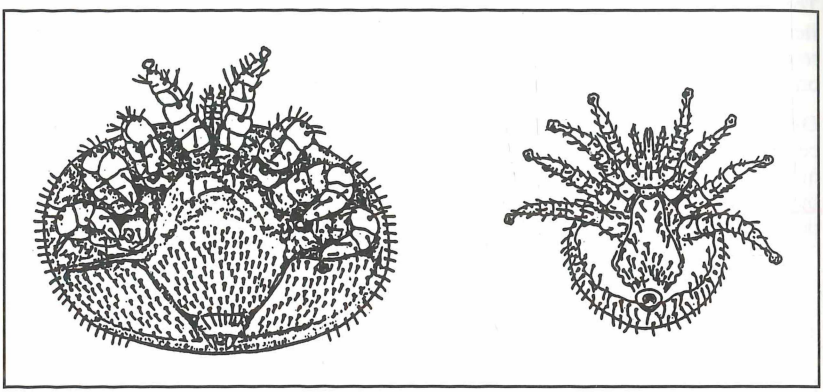


Abb. 1: *Varroa jacobsoni*, Bauchansicht. Links Weibchen, rechts Männchen (aus RADEMACHER et GEISELER, 1990)

Die Milbe *Varroa jacobsoni* OUDEMANS 1904 (Mesostigmata: Dermanyssidae) lebt als wenig schädlicher Ektoparasit ursprünglich auf der östlichen Honigbiene *Apis cerana* FABRICIUS 1793, deren Verbreitungsgebiet sich auf den südostasiatischen Raum beschränkt.

Als Mitte der 50er Jahre zunehmend Völker der westlichen Honigbiene *Apis mellifera* L. in das Verbreitungsgebiet der *Apis cerana* gebracht wurden, stellte man bald fest, daß *Varroa* ihnen großen Schaden zufügte, der meist mit dem Zusammenbruch des Volkes endete. Die Milbe erweiterte ihr Verbreitungsgebiet zügig nach Westen. 1964 tauchte sie in der UdSSR auf; in Deutschland wurde sie erstmals 1977 in Oberursel entdeckt. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit durch Eigenwanderung beträgt nur etwa drei km im Jahr. Die Ausbreitung wurde durch Wanderimkerei beschleunigt, konnte aber trotz Einrichtung von Sperrgebieten nicht aufgehalten werden (RUTTNER et RITTER, 1980).

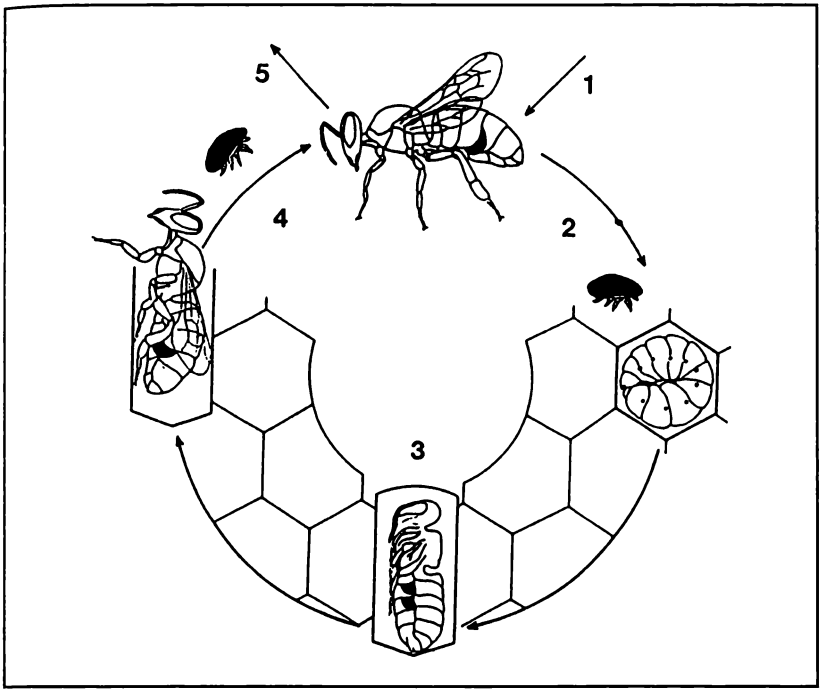


Abb. 2: Lebenszyklus von *Varroa jacobsoni* im Honigbienenvolk. 1: Invasion adulter weiblicher Milben auf imaginalen Bienen in das Volk; 2: Eindringen in die Brut kurz vor der Verdeckelung; 3: Fortpflanzung in der verdeckelten Zelle, Auftreten von männlichen und weiblichen Nachkommen, Begattung; 4 Schlupf der Biene mit der Muttermilbe und den vermehrungsfähigen Töchtern, es folgt eine phoretische Phase auf imaginalen Bienen mit anschließendem erneuten Eindringen in Brut oder 5 Evasion adulter weiblicher Milben auf Sammlerinnen in andere Völker (aus BOECKING, 1994)

Wie die ebenfalls ektoparasitische Milbe *Tropilaelaps clareae* reproduziert sich *Varroa* auf Bienenbrut und nutzt die imaginalen Bienen zur Verbreitung (Phoresie). Der Lebenszyklus von *Varroa* ist eng an die Phase der verdeckelten Brut gekoppelt (Abb. 2). Die begatteten Weibchen lassen sich mit den Bienenlarven in den Zellen verdeckeln (s. u.), und die Ontogenese der Nachkommen muß vollständig in den verdeckelten Zellen stattfinden. Die Weibchen bevorzugen Drohnen- über Arbeiterinnenzellen (FUCHS, 1992). Auf Arbeiterinnenlarven von *Apis cerana* bleibt *Varroa* ohne Nachkommen, ein wesentlicher Faktor des ausgeglichenen Wirt-Parasit-Verhältnisses.

• Morphologie und Anatomie

Die adulten *Varroa* -Weibchen sind queroval mit einer Breite von etwa 1 mm und hell- bis mittelbraun gefärbt (Abb. 1). Pro- und Opistosoma sind nahtlos miteinander verwachsen.

Die Milben können sich mit hoher Geschwindigkeit (etwa 5 mm/s) fortbewegen. Dabei benützen sie lediglich das zweite, dritte und vierte Beinpaar, an denen sich Haftorgane befinden. Das erste Beinpaar am Kopf mit seinen Sinnesborsten und einer an das Hallersche Organ der Zwecke erinnernden Grube mit Riechkegeln dient zum Tasten und Richen. Der Mund führt über einen Saugpharynx, mit dessen Hilfe die Hämolymphe der Bienen aufgesaugt wird, in den Mitteldarm mit mehreren Divertikeln.

Im Prosoma weist das Nervensystem eine Konzentration im Oberschlundganglion auf.

Die geschlechtsreifen Tiere weisen bereits einen starken Sexualdimorphismus auf: Das Männchen ist weiß, nur ca. 0,8 mm groß und viel schmaler als das Weibchen. Die Pedipalpen mit den Cheliceren sind zu Begattungsorganen umgebildet.

• Der Lebenszyklus von *Varroa jacobsoni*

60 bis 70 h nach der Verdeckelung der Brutzelle legt das Weibchen das erste Ei, aus dem sich ein Männchen entwickelt (IFANTIDIS, 1990). Im Abstand von etwa 30 h legt es einzeln weitere Eier (Abb. 3), die alle weiblich sind (REHM et RITTER, 1989).

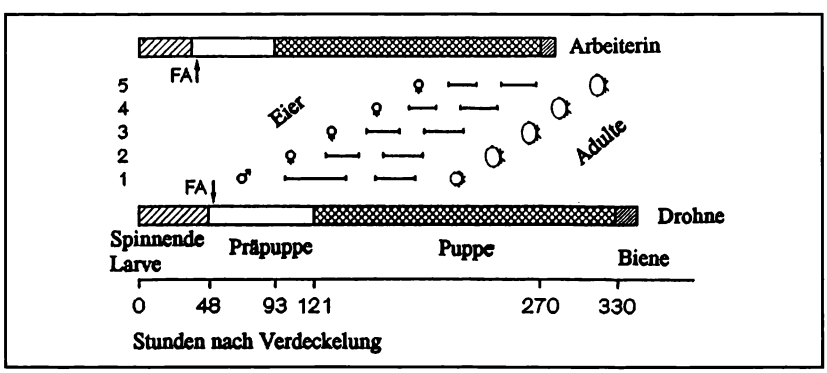


Abb. 3: Eiablage von *Varroa* und Entwicklung der Nachkommen von der Zellverdeckelung bis zum Schlupf der Biene. Die waagrechten Balken stellen mobile Proto- und Deutonymphen dar, und die Lücken dazwischen immobile Stadien. (aus DONZE et GUERIN, 1994)

Die Ontogenese ist bei den Männchen nach 5,5 Tagen, bei den Weibchen nach 7,5 Tagen abgeschlossen. Die Männchen überleben den Schlupf der Biene nicht.

Die wie die Männchen zunächst weißen Töchter entwickeln erst mit dem Adultstadium den harten, braun gefärbten Rückenpanzer; nur die Tiere, die sich bis zum Schlupf der Biene fertig entwickelt haben, können überleben.

Während des Invasionsvorganges verstecken sich die Muttermilben zunächst unter den Larven im Futtersaft, wobei sie sich über eine Atemröhre mit O2 versorgen.

DONZE und GUERIN (1994) beobachteten Milben in durchsichtigen Polystyrol-Zellen mit Bienenlarven: Die Milben haben spezialisiertes Verhalten bezüglich ihrer Ortswechsel, um den Bedrohungen des Kokonspinnens der Larve zu entgehen.

Während der Verpuppung der Bienen verschieben die *Varroa*-Mütter die dritten Beine der Puppen, so daß sie mehr Platz haben und ventral am Abdominalsegment 5 eine Futterstelle anlegen können. Diese Einstichstelle ist lebensnotwendig für die Nachkommen: Sie sind nicht in der Lage, allein Nahrung aufzunehmen.

- *Varroa*-typische Schäden an den Bienen

Der durch den Parasiten verursachte Hämolymphverlust ist bei der Brut wesentlich schwerwiegender als die spätere Parasitierung der adulten Bienen. Die frisch geschlüpften Bienen weisen einen Gewichtsverlust auf und haben eine verminderte Lebenserwartung (DEJONG et al., 1982).

Die parasitierten Larven und Bienen sind anfällig für Sekundärinfektionen, die von den Milben als Vektoren übertragen werden: Die Mortalität des Wirtes geht auf das Virus der aktuen Bienenparalyse (APV) zurück, ein *Picorna*-Virus (BALL, 1985). Vor Einwanderung der *Varroa* nach Großbritannien persistierte das Virus als eine inapparente Infektion auf den Bienen. *Varroa* tritt also nicht nur als Vektor auf, sondern aktiviert auch die Virus-Replikation. Ein anderes Virus verursacht verkrüppelte Flügel (SCHNEIDER et DRESCHER, 1987), die am deutlichsten sichtbare Folge einer stärkeren *Varroa*-Infektion. Viele Bienen sind auch kleiner oder haben andere Mißbildungen.

- Die Verbreitung von *Varroa*

Auf die Fortpflanzungsphase in der verdeckelten Brutzelle folgt die phoretische Überdauerungs- und Infektionsphase auf Adultbienen.

Die Verbreitung des Parasiten auf neue Völker erfolgt über fehlorientierte oder räubernde Sammlerinnen.

1.2 Bekämpfung der Varroatose

Als Hauptverfahren zur Bekämpfung der Varroatose dienen derzeit weltweit der Einsatz von Akariziden und bio-technische Bekämpfungsverfahren (RITTER, 1988). Die systematischen Mittel werden im Volk durch Trophallaxis von Biene zu Biene transportiert (KOENIGER et FUCHS, 1988). Als Mittel dieser Generation wird zur Zeit Cekafix® verwendet.

Der nächste Schritt in der Verwendung von Medikamenten sind Substanzen, die sich die Bienen nach Art der Königinnensubstanz gegenseitig vom Körper abnehmen. Das Pyrethroid Flumethrin, in PVC-Streifen als Bayvaro® auf dem Markt, zeigt eine sehr hohe Effektivität bei einer nicht mehr meßbaren Wirkstoffkonzentration. Ihr Vorteil liegt in der Anwendbarkeit direkt nach dem Abschleudern des Honigs im Herbst (KOENIGER et FUCHS, 1988a).

Der Einsatz von Chemotherapeutika birgt in der Tierhaltung verschiedene Nachteile wie Kosten und Rückstände in den tierischen Produkten, Resistenzbildung und Verschleierung widerstandsfähigerer Genotypen.

Als relativ ungiftige Substanz wurde die Bekämpfung mit Ameisensäure in letzter Zeit weiterentwickelt.

Darüberhinaus werden auch von einigen Imkern Methoden zur bio-technischen Bekämpfung von *Varroa* praktiziert, z.B. das Ausschneiden und Vernichten der für die Milben besonders attraktiven Drohnenbrut (ROSENKRANZ et ENGELS, 1985).

Die Untersuchungen von KRAUS (1990) zeigen, daß die Orientierungsleistung von *Varroa* zum Wirt durch einige ätherische Öle wie Majoranöl beeinträchtigt wird.

In der Zucht auf erhöhte Toleranz der Bienen gegen die Milbe zwei Varianten zu unterscheiden: zum einen eine Auslese widerstandsfähigerer Bienen aufgrund der vergleichenden Befallsentwicklung mit *Varroa*, ohne dabei relevante Merkmale im einzelnen zu analysieren, zum anderen die gezielte Selektion von Linien mit spezifischen Merkmalen, die zur erhöhten Toleranz gegenüber *Varroa* beitragen können (KULINCEVIC et al., 1988; OTTEN 1989). Die Zuchtarbeit muß unter den gegebenen Umweltbedingungen allerdings auch weiterhin den übrigen Anforderungen der Imkerei genügen.

Eine geeignete Prüfmethode, die vorhandene Varianz innerhalb der Zuchtpopulation und die Heritabilität des jeweiligen Merkmales entscheiden schließlich über einen möglichen Zuchtfortschritt (BOECKING, 1994).

Wenn eine Milbe eine *Apis cerana* neu besteigt, führt diese häufig einen Putztanz durch, mit dem sie Stockgenossinnen zum Entfernen des Fremdkörpers auffordert (PENG, 1988). Dieses Putzverhalten und das Ausfressen befallener Brut sind allerdings *Apis mellifera* nur schwach ausgeprägt, jedoch konnten in Europa auch offenbar genetisch bedingte Unterschiede im aktiven Abwehrverhalten festgestellt werden (RUTTNER et HÄNEL, 1992).

Trotz des sehr genau geregelten Mikroklimas im Stock zeigte es sich, daß in Gebieten mit tropischen Klima die Zahl der reproduzierenden Milben in der Brut deutlich niedriger als in Europa ist (RITTER et DEJONG, 1984). Dem Faktor wirtsbedingte Unfruchtbarkeit der Milben in Arbeiterinnenbrut könnte bei der Zucht auf *Varroa*-Toleranz große praktische Bedeutung zukommen (ROSENKRANZ et ENGELS, 1994).

1.3 Der Einfluß der Verdeckelungsdauer auf die Vermehrung von *Varroa*

Die Zeitspanne von der Verdeckelung der Zellen bis zum Schlupf der Bienen wird kurz mit Verdeckelungsdauer bezeichnet und ergibt sich als Mittelwert einer Stichprobe innerhalb eines Volkes oder einer Teilpopulation. Die Verdeckelungsdauer bestimmt möglicherweise den Fortbildungserfolg der Parasiten entscheidend. Die bereits erwähnten Eiablage-Zeitpunkte und die Entwicklungsdauer der Nachkommen begrenzen den Reproduktionserfolg, so daß in einer Arbeiterinnen-Brutzelle von *A. mellifera carnica* mit einer Verdeckelungsdauer von etwa 11,5 Tagen nicht mehr als zwei Töchter das Adultstadium erreichen. Die Zahl der potentiell reproduktiven Töchter eines Weibchens innerhalb eines Fortpflanzungszyklusses wird dessen Reproduktionserfolg genannt, während mit Reproduktionsrate die Nachkommenzahl während des gesamten Lebens eines Tieres bezeichnet wird.

Die Verdeckelungsdauer könnte ein für die Bekämpfung aussichtsreicher Faktor sein. Er variiert genügend, um auf die unterschieliche Reproduktion von *Varroa* in verschiedenen Rassen und zwischen der *Apis cerana* und der *A. mellifera* messbar einzuwirken.

LANGENBACH (1993) bestimmte die mittleren Verdeckelungsdauern von Völkern verschiedener europäischer Rassen. Diese lagen zwischen 284 und 294 h. Hierbei weichen die afrikanischen Rassen wie *A. m. capensis* besonders deutlich ab, die nur eine Verdeckelungsdauer von 260 h hat. Dies kann eine Ursache dafür sein, weshalb Bienen südafrikanischer Abstammung keine nennenswerte Schädigung durch den Bienenparasiten erfahren.

Wir (PERNER et al., 1992) hängten eine Brutwabe eines Volkes in ein anderes mit einer anderen Verdeckelungsdauer um und maßen sie in beiden parallel: Sie näherte sich an die des Pflegevolkes an. Umgekehrt zeigte sich allerdings auch, daß die genetische Herkunft ebenso von Bedeutung ist.

MORITZ (1985) kreuzte drei Rassen mit jeweils fünf Völkern und errechnete aus der Eltern-Nachkommen-Regression eine Vererbbarkeit von h2=0,68 für die Verdeckelungsdauer.

1.4 Der Invasionsvorgang und Mehrfachbefall

Die Ammenbienen verdeckeln die Larven am achten Tag nach Eilage, sie können also den nötigen Verdeckelungszeitpunkt für jede Larve feststellen. Die Milben identifizieren möglicherweise dieselben Signale wie die Ammenbienen. Diese Invasion erfolgt ab 14 h vor dem Verdeckelungszeitpunkt der Arbeiterinnenbrutzellen von *Apis mellifera* (WIETING et FERENZ, 1991). Die Milben können im Simultanwahltest Arbeiterinnenmaden und Drohnenmaden unterscheiden (OTTEN et FUCHS, 1988).

Die Sekretion von drei Fettsäureestern steigt vor der Verdeckelung der Zellen an. Neben chemischen Stimuli spielt auch der Abstand zwischen Larve und Zellöffnung eine große Rolle. GOETZ und KOENIGER (1992) verkürzten Brutzellen künstlich und beobachteten eine frühere Verdeckelung; verlängerte Zellen wurden später verdeckelt. Die Ammenbienen messen offenbar mit den Antennen den Abstand. Ein Vergleich von künstlich verkürzten Zellen und Kontrollzellen mit Larven gleicher Größe ergab, daß die verkürzten Zellen höher befallen sind.

Je nach Befallsgrad des Volkes findet man unbefallene, mit einer Muttermilbe besetzte Zellen und Zellen mit zwei oder mehr Muttermilben. Nimmt man an, daß sich die Milben rein zufällig über die Zellen verteilen, kann man zum ermittelten mittleren Befall μ (Anzahl Milben/Anzahl Zellen) die zugehörige Poisson-Verteilung ausrechnen. Diese entspricht angenähert der Anteile der nicht, einfach, doppelt und mehrfach befallenen Zellen. Die Wahrscheinlichkeit Pk , daß k=0,1,2,3 ... Milben in einer Zelle zu finden sind, wird nach folgender Formel berechnet:

$$P_k = e^{-\mu} \frac{\mu^{-k}}{k!}$$

FUCHS (1985) berechnete in Computermodellen für jede Befallsrate die Anteile der Zellen mit 0, 1, 2 ... Milben mit einer Überlagerung von 10 Poisson-Verteilungen, die eng die beobachteten Verteilungen wiedergaben.

Der normale Reproduktionserfolg von *Varroa* ergibt sich aus der Untersuchung einfach befallener Zellen. Mit steigendem Befall der Zellen nimmt die Anzahl von Nachkommen pro *Varroa* deutlich ab, da die späteren Nachkommen ausfallen.

1.5 Aufgabenstellung

- Verdeckelungsdauer und Fortpflanzungserfolg

Auf der Suche nach toleranzbedingenden Mechanismen der Honigbiene *Apis mellifera* gegen die ektoparasitische Milbe *Varroa jacobsoni* galt als Hauptziel der vorliegenden Arbeit, den Einfluß der Verdeckelungsdauer der Arbeiterinnenbrut auf den Reproduktionserfolg des Parasiten zu untersuchen.

In den erwähnten Langzeitbeobachtungen konnte eine Zusammenhang festgestellt werden, allerdings muß man hier berücksichtigen, daß eine ganze Reihe von Faktoren das Populationswachstum beeinflussen wie das möglicherweise unterschiedliche Brutangebot in den verglichenen Völkern.

In einer anderen wichtigen Methodik wurden die Entwicklungszeiten der Milben-Nachkommen durch Öffnen der Zellen protokolliert. Hierbei bleibt jedoch die tatsächlich den Schlupf überlebende Zahl der Milben bei verschiedenen Verdeckelungsdauern ungewiß.

In meinen Untersuchungen sollte von den Parametern, die das Populationswachstum bestimmen, separat der Einfluß der Verdeckelungsdauer auf die Vermehrung genauer verfolgt werden. Hierzu sollte eine Serie von Versuchen gestartet werden, in denen der Reproduktionserfolg in einer Generation ermittelt wurde.

Für diese Serie sollten zunächst Völker innerhalb der Rasse A*pis mellifera carnica* gefunden werden, die eine große Spanne in der Verdeckelungsdauer abdecken.

Mit dem Kombinieren von deren Brut in einem Volk sollten anderweitige Unterschiede zwischen Rassen, Linien und Völkern weitgehend ausgeschlossen werden, um den Einfluß der Verdeckelungsdauer auf die Vermehrungsrate noch genauer einzugrenzen.

- Verhaltensbeobachtungen von *Varroa* auf Brutzellen und in Testarenen

Ausgehend von der Beobachtung mehrfach befallener Zellen, der Präfenz von Drohnenzellen und des kurz vor der Verdeckelung einsetzenden Invasionsvorganges sollte die Frage geklärt werden, ob die Milben rein zufällig in eine Zelle wandern oder ob eine Auswahl stattfindet, und ob bereits befallene Zellen mehr oder minder attraktiv werden.

Um die beiden Möglichkeiten Attraktivität der Larve bzw. Attraktivität einer anderen Milbe in der Zelle zu unterschieden, beobachtete ich Infektionsversuche an einer eingeschränkten Zahl an Brutzellen.

Ein weiteres Versuchsprogramm sollte Aufschluß über die gegenseitige Attraktivität der Milben geben. Dabei sollte das Verhalten von zwei Milben in einer Versuchsarena beobachtet werden. Außerdem wurde die olfaktorische Orientierung untersucht.

2 Methodik

2.1 Reproduktionserfolg von *Varroa jacobsoni*

• Versuchstiere

Die Versuche wurden mit Bienenvölkern der Rasse *Apis mellifera carnica* auf Flächen des Instituts für Bienenkunde Oberursel durchgeführt.

Am Oberurseler Institut waren in einem *capensis-x-carnica*-Zuchtprogramm Königinnen über 5 Generationen auf kurze Verdeckelungsdauer ausgelesen worden. Bei 5 Völkern aus diesem Bestand bestimmte ich zunächst die Verdeckelungsdauer für eine Auswahl für meine Versuche.

Ein weiteres Volk mit selektiv verkürzter Verdeckelungsdauer wurde aus der reinen *carnica*-Zucht von M. Perner hinzugenommen.

Zwei weitere, relativ stark mit Milben befallene Völker wurden von einem Imker mit mangelhafter *Varroa*-Behandlung bezogen. Sie wurden isoliert von anderen Völkern an der institutseigenen Varroastation aufgestellt.

• Messung der Verdeckelungsdauer

Die Verdeckelungsdauer eines Volkes wurde als Mittelwert von etwa 20 bis 80 Zellen, die ungefähr gleichalt waren, errechnet.

Festhalten des Verdeckelungszeitpunktes auf Folie
Die Brutwabe mit den zu beobachtenden Zellen legte ich auf eine selber gebaute Schablone, die auch eine Transparentfolie in einer immer gleichen Position hält. Alle 3 h wurden die seit der letzten Kontrolle neu verdeckelten Zellen mit einem Folienstift markiert. Bei jeder Kontrolle wurde eine andere Farbe benutzt und die Wabe ins Brutnest zurückgehängt.

Bestimmen des Schlüpfzeitpunktes der Arbeiterinnen
Der Schlüpfzeitpunkt wurde in der von LANGENBACH (1993) gebauten Schlupfapparatur registriert: 9 Tage nach der Verdeckelung wurde die Wabe entnommen und die Zellen, deren Verdeckelungszeitpunkt auf ein 3-h-Intervall eingegrenzt werden konnte, mit handelsüblichen, nummerierten Opalith-

Plättchen individuell markiert. Zum Aufkleben wurde ein mit einem Heizdraht umwickelter Metallstab verwendet.

Anschließend wurde die Wabe in das Volk auf der Registrierapparatur gehängt, um den Schlüpfzeitpunkt der einzelnen Bienen aus den markierten Zellen festzustellen.

Die Registrierapparatur
Wenn eine junge Biene beim Schlüpfen den markierten Zelldeckel aufnagte, fiel das Opalithplättchen durch ein Gitter im Boden des Zander-Magazines in einen Trichter, der sich über einer Drehscheibe aus Plexiglas befand. Die Scheibe ist in 24 Segmente unterteilt und saß auf einer Zeitschaltuhr, die die Scheibe kontinuierlich in 24 h einmal drehte. Das Flugloch mündete durch einen kurzen Gang ins Freie.

Vorzeitig abfallende Plättchen fielen in den ersten Stunden nach dem Einhängen der markierten Brut ins Schlüpfvolk auf die Scheibe. Sie waren also von tatsächlichen Schlupfvorgängen eindeutig zeitlich getrennt.

- Auswahl der Versuchsvölker

Zu Beginn der Versuchsperiode (im Mai) stellte ich die Verdeckelungsdauer von fünf *capensis*-x-*carnica*-Völkern fest: zwischen 11, 22 und 11,57 Tagen mit einer mittleren Standardabweichung von 7,7 h.

Die Volksmittelwerte der Verdeckelungsdauer sind auffalend ähnlich. Die geringe Variation beruht auf Verwandtschaft. Infolge der stetigen Einkreuzung von *carnica*-Material liegt die Verdeckelungsdauer zwischen der der *A. carnica* und der Kap-Biene.

Von sechs züchterisch nicht beeinflußten *carnica*-Völkern entnahm ich Wabenstücke mit Brut und bestimmte das Volk mit der längsten Verdeckelungsdauer für die Hauptversuche. Die Werte hier lagen zwischen 11,66 und 11,93 Tagen.

- Bestimmung der Reproduktionsdaten von *Varroa*

Um den Zuwachs der Milbenpopulation in einem Brutzyklus zu ermitteln, hängte ich pro Einzelversuch zwei milbenfreie Brutwabenstücke eines Herkunftsvolkes in das stark befallene *Varroa*-Volk.

Das eine Wäbchen jedes Einzelversuches diente zur Feststellung des Anfangsbefalls (Milben pro Zellen) und das andere zur Abschätzung des Zuwachses nach Schlupf der Bienen.

Die Schwankungen in der Befallsdichte sollten mit der Mitteilung der Reproduktionsdaten über mehrere Versuche ausgeglichen werden.

Die Einzelversuche wurden paarweise durchgeführt, wobei Brut aus einem Versuchsvolk mit kurzer und aus einem mit langer Verdeckelungsdauer verwendet wurde.

Um Larven möglichst gleichen Alters zu erhalten, wurde die Königin für einen Tag im Brutnest auf eine leere Wabe in einer Wabentasche, die die kleineren Arbeiterinnen noch ungehindert passieren können, gesperrt.

Sobald 8 Tage später innerhalb der nächsten 24 h mit dem Beginn des Verdeckelns zu rechnen war, schnitt ich zwei Rechtecke mit etwa 100 Zellen auf jeder Seite heraus und setzte sie in Holzrähmchen ein. Diese Versuchswäbchen wurden in einen Zanderrahmen mit einer Trägerleiste auf halber Höhe und Halteklammern eingesetzt und zentral im Brutnest des Infektionsvolkes plaziert.

Bei sechs Versuchen wurde die Verdeckelungsdauer parallel mit einem dritten Wäbchen gemessen.

8 Tage nach der Verdeckelung wurde pro Herkunftsvolk ein Wäbchen entnommen zur Feststellung des Anfangsbefalls. Zur Befallsanalyse wurde jede Zelle geöffnet, die Puppe entnommen und die Zelle und die Puppe unter dem Binokular nach Milben abgesucht.

Wenn Milbenlarven fehlten, wurden die Mütter als steril registriert. Für jedes Wäbchen wurden die nichtbefallenen, mit einer, zwei, drei oder mehr Müttern befallenen Zellen separat gezählt und der durchschnittliche Befall ausgerechnet.

Kurz vor dem Schlupf wurde das zweite Wäbchen jedes Herkunftsvolkes in einen Käfig gestellt und 100 Bienen von einem *Varroa*-freien Volk zugegeben. Unter dem Bodengitter wurden die abgefallenen toten Milben zur Zählung erfaßt. Die Anordnung wurde in Brutschrank mit 34 °C gestellt.

Ein Tag, nachdem alle Bienen geschlüpft waren, wurde die Größe der neuen *Varroa*-Population bestimmt, indem z. B. die Bienen mit CO_2 betäubt und sorgfältig einzeln auf Milben abgesucht wurden.

• Auswertung

Für jeden Versuch wurde quasi der Populationsdichte-Zuwachs ausgerechnet: mit den Zahlen der adulten Milben und der verdeckelten Zellen wurde die Befallsdichte ausgerechnet (M = Milben/Zellen), und der Quotient S adulte Milben pro geschlüpfte Bienen gebildet. Das Verhältnis dieser beiden Quotienten ergibt die Schätzung des durchschnittlichen Reproduktionserfolges:

$$R = \frac{S}{\mu} - 1$$

Diese Werte des Reproduktionserfolges, die sich aus jedem Einzelversuch ergaben, wurden auf Korrelation mit der Verdeckelungsdauer geprüft.

2.2 Verhaltensbeobachtungen von *Varroa* auf Brutzellen und in Arenen

• Versuchstiere

Diese Thematik wurde an der Bienenstation des Zoologischen Instituts II in Würzburg durchgeführt. Hier wurde ein *Varroa*-Volk zwecks Quarantäne in einem Freiflugkäfig gehalten.

Die Milben nahm ich unmittelbar vor dem Versuch von leicht betäubten Bienen (2 min in CO_2) mit einem Pinsel ab und setzte sie in die Versuchsanordnung, die sich in einem Brutschrank mit Glastür bei konstant 34°C befand.

• Videoaufnahmen

Die Milben wurden durch ein Operationsmikroskop mit einer angeschlossenen Videokamera Panasonic WV (rotlichtempfindlich), einem Videorecorder (Panasonic NV 180) und einem Monitor bei Rotlichtbeleuchtung beobachtet und gefilmt.

• Verhalten von *Varroa* auf Arbeiterinnenbrut

Für die Versuche mit intakten Brutzellen schnitt ich alternativ Stücke aus Brutwaben oder stellte ganze Waben (Zander) in den Brutschrank. Die Wabenstücke wurden senkrecht im Brutschrank aufgebaut.

Um die den Milben zur Verfügung stehende Zellenzahl einzuschränken.

Ich teilte jeweils eine Gruppe von Zellen auf der Brutwabe mit Wachsstreifen ab, die unmittelbar vor dem Verdeckeln standen.

Das Zellenmuster und den Weg der Milbe zeichnete ich auf einer auf den Video-Monitor geklebten Transparentfolie nach. Für jede Seite einer Zellwand wurden die Überläufe der Milbe gezählt und die Summe für jede Zelle gebildet.

- Arenaversuche

Die Versuchskammer für die Arenaversuche (Abb. 4a) besteht aus drei Ebenen: ein Objektträger als Boden, eine Plexiglasscheibe, in der das Lumen der Kammer ausgesägt ist (Durchmesser 1 cm), und ein weiterer Objektträger. Diese drei Schichten wurden mit zugeschnittenem Teflonfilm abgedichtet und zusammengeklammert.

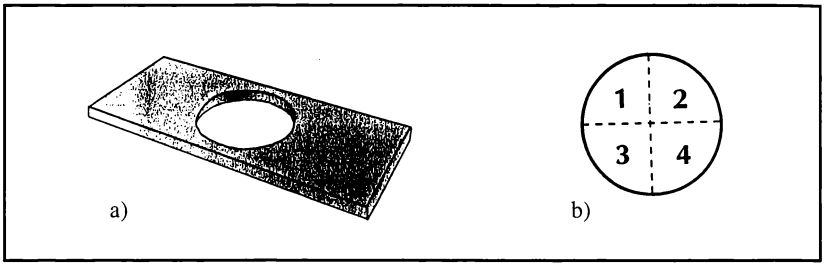


Abb. 4a: Das Plexiglas-Mittelteil der Arena
4b: Die Einteilung der Grundfläche in vier Sektoren

Die Arena wurde zur Auswertung in vier Sektoren eingeteilt (Abb. 4b). Die Sektorenaufenthalte wurden alle 10 s erfaßt bei einer Beobachtungsdauer von 15 min.

Weiterhin maß ich auf dem Monitor alle 10 s die Entfernung der Milben voneinander und errechnete den Durchschnitt.

- Duftstoffversuche

Zur Erzeugung der Luftströme wurde eine Peristaltikpumpe verwendet, bei der die Geschwindigkeit stufenlos eingestellt werden kann.

Über drei Bohrungen in der mittleren Scheibe schloß ich Teflonschlauchstücke an. Der Anschluß in der Symmetrieachse diente zum Absaugen der Luft nach, die über Einwegspritzen mit verschiedenen Objekten geleitet wurde. Hier bot ich den Milben vier verschiedene Testsituationen: Bienen, Larven oder Milben auf der einen Seite und die andere Seite leer, oder beide Seiten leer.

Die Geschwindigkeit der Pumpe wurde in einer separaten Anordnung kalibriert, so daß die Luft in der Kammer mit 3 mm/s strömte.

Alle 10 s wurde die Position als das Feld, in dem sich die Milbe aufhielt, registriert.

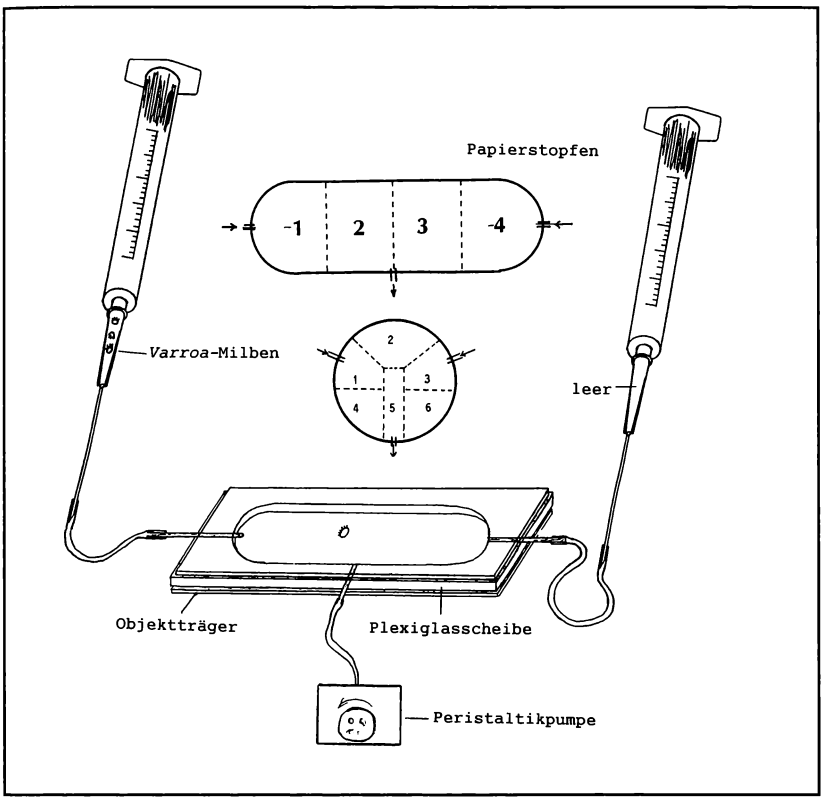


Abb. 5: Die Versuchsapparatur. Die Kammer ist in der Mitte an die Pumpe angeschlossen, über die beiden Einwegspritzen strömt Luft nach. In der Mitte ist die für die Auswertung getroffene Einteilung der Kammerfläche dargestellt.

• Auswertung

Für jeden 15 min-Versuchsblock wurden die Registrierungen für jedes Aufenthaltsfeld gezählt. Die 10s- bzw. 5s-Abschnitte, in denen die Milbe saß, wurden extra gezählt. So erhielt ich den zeitlichen Anteil des aktiven Aufenthaltes auf der einen oder anderen Seite der Kammer. Diese Anteile wurden auf signifikante Abweichung von der zufallsmäßigen gleichen Verteilung mit dem Chi-Quadrat-Test geprüft.

3 Ergebnisse

3.1 Verdeckelungsdauer und Reproduktionserfolg

Es wurden insgesamt 25 Transfers von Test-Brut durchgeführt, die zu auswertbaren Ergebnissen führten (das Material von einem Volk zu einem Zeitpunkt als 1 Transfer gezählt). In 4224 Zellen und auf 3957 Bienen wurden 6159 Milben gezählt.

• Reproduktionserfolg

Die ermittelten Werte für den Reproduktionserfolg haben eine recht hohe Streuung (Abb. 6), von -0,62 (zu Versuchsende waren relativ weniger Milben wie am Anfang vorhanden) bis etwa 4,7. Der durchschnittliche Reproduktionswert liegt bei 1,13.

Trägt man den für jeden Transfer ermittelten Reproduktionserfolg gegen die für den gleichen Zeitraum gemessenen Verdeckelungsdauer auf, kann man keine deutliche Abhängigkeit der beiden Parameter erkennen (Abb. 6) , die Regressionsanalyse ergibt eine schwach steigende Gerade. Die Varianzanalyse zeigt, daß der Zusammenhang jedoch nicht signifikant ist. Der Reproduktionserfolg zeigt vielmehr eine große Streuung.

Der Reproduktionserfolg nimmt über den Sommer zu (Abb. 7). Die Regression ergibt, daß der Zusammenhang signifikant ist (P 0.05). Dies ist noch besser statistisch abzusichern, wenn der Effekt des Mehrfachbefalls rechnerisch eliminiert wird.

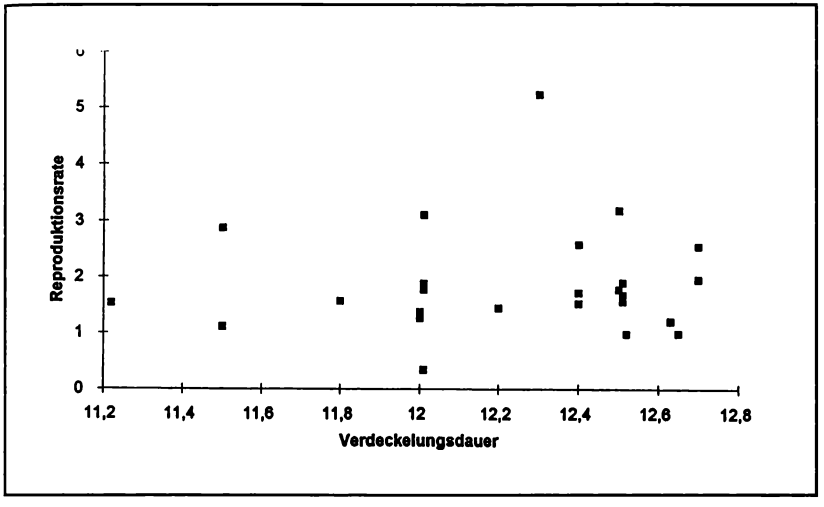


Abb. 6: Der Zusammenhang von Verdeckelungsdauer und Reproduktionserfolg. Jeder Punkt ist das Ergebnis eines Versuchs

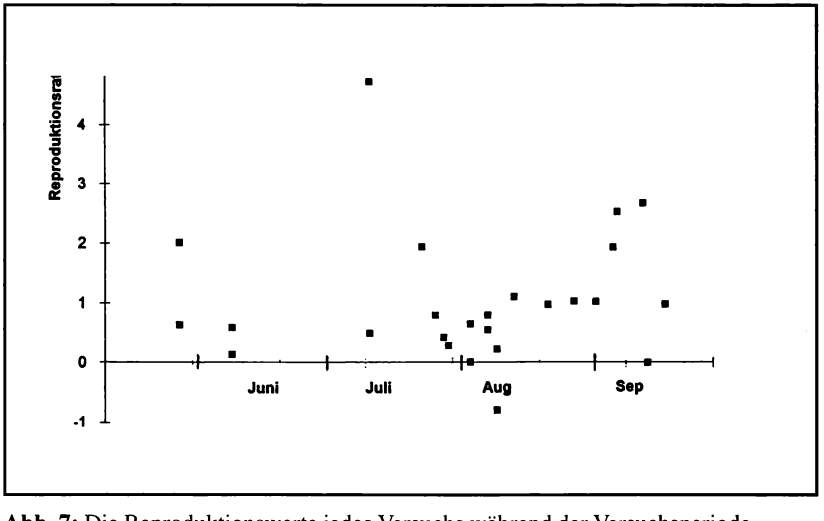


Abb. 7: Die Reproduktionswerte jedes Versuchs während der Versuchsperiode

• Auswertung nach Versuchspaaren

In einem weiteren Auswertungsschritt wurden die gepaarten Versuche berücksichtigt, also die Wäbchen, die eine gemeinsame Fläche im Infektionsvolk bildeten und derselben Milbenpopulation ausgesetzt waren, aber aus verschiedenen Völkern stammten mit unterschiedlichen Verdeckelungsdauern. Aus den Reproduktionsraten und den Verdeckelungsdauern wurden die Differenzen gebildet: Zwischen Differenzen ist keine Abhängigkeit zu erkennen.

• Korrektur für Sterilität und Mehrfachbefall

Da ein Teil der Milben ohne Nachkommen bleibt, wurde für deren Nichtbeitrag zur Populationsgröße der nächsten Generation eine Korrektur für den Reproduktionswert durchgeführt, der mit Hilfe des Anteiles infertiler Muttermilben im Vergleichswäbchen berechnet wurde.

Der Effekt, daß mehrere Milben in der gleichen Zelle sich in ihrem Reproduktionserfolg beeinträchtigen, wurde in einem weiteren Rechenschritt durch Umrechnung auf einfach befallene Zellen eliminiert. Hierfür verwendete ich die Auswertung einer großen Zahl von Milbennachkommen durch Fuchs (1989), woraus ich die Reproduktionswerte 1,37, 1,23, 1,10 und 0,96 für 1-, 1-, 3- und mehrfach befallene Zellen errechnete (M Zahl der Milben; Zn Zahl der n-fach befallenen Zellen):

$$R_{korr} = R * \frac{Z_1 + 2 * Z_2 * \frac{1,37}{1,23} + 3 * Z_3 * \frac{1,37}{1,10} + 4 * Z_4 * \frac{1,37}{0,96}}{M}$$

Die Regressionsanalyse dieser Werte in Abhängigkeit von der jeweiligen Verdeckelungsdauer ergibt eine leicht ansteigende Gerade, die nicht signifikant ist (Abb. 11).

• Verdeckelungsdauer

Während der Versuchsperiode wurde sechs mal die Verdeckelungsdauer der Versuchsvölker gemessen: Sie nimmt über den Sommer stark zu. Die geringste Zunahme wurde für das Volk A aus der *Carnica*-Zucht auf kurze Verdeckelungsdauer festgestellt, hier stieg sie von 11,6 auf 12,0 Tage.

• Temperaturmessungen

Von Juli bis in Oktober wurden tagsüber Temperaturmessungen in der Wabengasse und in verdeckelten Brutzellen vorgenommen. Nur diejenigen Messungen wurden weiter verwendet, bei denen der Temperaturfühler noch im Zelldeckel eingebaut war.

Die Temperaturen nehmen im Stock zum Herbst hin ab. Die Temperatur in den Brutzellen wurde mit etwa 20 höher gemessen als in der Wabengasse.

• Mehrfachbefall

Der Anteil der mehrfach befallenen Zellen an allen befallenen Zellen ist zu Beginn der Versuchsphase mit etwa 40% schon sehr hoch und zeigt, daß die Versuchsvölker bereits stark infiziert waren.

Die Zahlen der Zellen, die ein- oder mehrfach befallen sind, bilden eine stark abnehmende Wertereihe (Abb. 8).

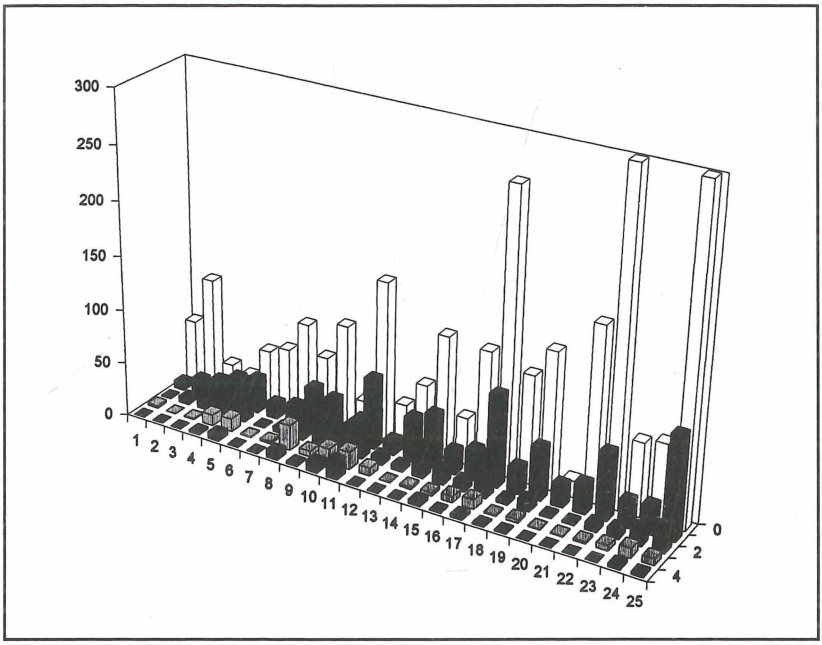


Abb. 8: Anzahlen an mehrfach befallenen Zellen der einzelnen Versuchswäbchen

Die Mehrfachbefallszahlen wurden mit der Poisson- und geometrischen Verteilung statistisch verglichen.

Diese theoretisch zu erwartenden Verteilungen werden aus dem beobachteten Mittelwert, also dem durchschnittlichen Befall (Milben pro ausgewertete Zellen) errechnet.

Die geometrische Verteilung nähert sich den tatsächlichen Zahlen besser als die Poisson-Verteilung.

Bei der Poisson-Verteilung sind in der Realität mehr Zellen ohne Befall und weniger Zellen einfach und doppelt befallen als der Erwartungswert vorgibt; dafür sind mehr Zellen dreifach befallen.

Die Abweichung von der geometrischen Verteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test geprüft: Bei 18 der 25 Versuche war die Abweichung auf dem 5%-Niveau nicht signifikant.

Wird die Zahl der Nachkommen in Abhängigkeit vom Anteil der mehrfach befallenen Zellen aufgetragen, sieht man, daß bei höherem Mehrfachbefall deutlich weniger Nachkommen produziert werden.

- Beeinflußt Mehrfachbefall die Verdeckelungsdauer?

In einem Nebenversuch wurde die Verdeckelungsdauer in Abhängigkeit vom Befall untersucht: Es zeigt sich, daß die Parasitierung nicht die Entwicklungszeit verzögert, obwohl bei einem Teil der im Versuchskäfig geschlüpften Tiere deutliche morphologische Mißbildungen zu verzeichnen waren.

Ferner wurden die Wäbchen zur Auswertung in 4 Sektoren aufgeteilt und deren Befallsdichten verglichen. Sie schwanken als Maß für räumlich abweichende Befallsdichten recht stark. Die Anzahlen der invasionsbereiten Milben schwankten auch über die Versuchsperiode recht stark.

3.2 Verhaltensbeobachtungen von *Varroa jacobsoni*

- Brutzellenversuche

In 40 Beobachtungsperioden wurden Milben einzeln auf Zellrändern von Brutzellen im Brutschrank ausgesetzt und über einen Zeitraum von 5 bis 20 min beobachtet.

Die Milben liefen ausgiebig die Zellränder ab.

Ich zäunte den Versuchsbereich u.a. mit Wachsstreifen ein. Die Milben vermieden es, solche unnatürlichen Strukturen zu überqueren.

Wenn Milben in einer Zelle auf eine Larve gelaufen waren, zeigten sie längere Phasen des ruhig Sitzens auf der Larve, die sich mit kurzem Umherlaufen, Drehen und Betrillern mit dem ersten Beinpaar abwechselten.

Nachdem die Zellenzahl im Experiment eingeschränkt wurde, wurden häufiger Mehrfachbefälle beobachtet. Zwischen den Milben auf einer Larve kam es häufig zu Kontakten: bloße Berührungen, Kopf an Kopf gegenüberstehen, betrillern mit dem vorderen Beinpaar, übereinanderlaufen, schubsen. In der Folge verließ in 16 Fällen eine Milbe die Zelle, in 11 Fällen nicht. Es wurden keine Verhaltenselemente beobachtet, die als deutlich aggressiv eingestuft werden könnten.

Der Weg von 10 Milben, die einige Minuten auf der Wabe liefen, wurde aufgezeichnet:

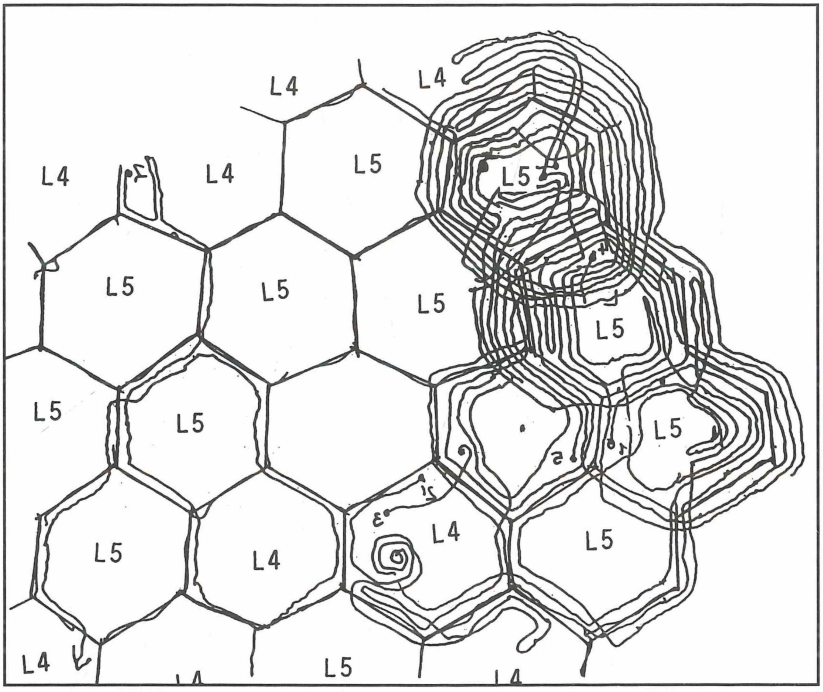


Abb. 9: Weg einer Milbe auf einer Brutfläche. L5 ältere Larve, L4 jüngere Larve

Ein Vergleichen oder Inspizieren verschiedener Zellinhalte durch *Varroa* konnte nicht festgestellt werden.

In fünf Fällen wurde das Brutwabenstück ins Volk zurückgebracht. Bei der Kontrolle einige Stunden später ergab sich, daß die bevorzugten Zellen im Gegensatz zu den benachbarten bereits verdeckelt waren, diese Zellen waren also etwas älter.

•Arenaversuche

Zwei Milben in einer Kammer

Die Milben wurden für 15 min in der runden Kammer gefilmt. Alle 10 s wurde Position und Abstand erfaßt.

Die beiden Milben waren mit einem durchschnittlichen Abstand von 1,1r (Radius der Kammer r=0,5 cm) insgesamt etwas weiter voneinander entfernt als der mathematische Mittelwert von 0,8 r. Dieser ermittelte ein Programm, das alle Abstandskombinationen von Punkten auf einem Raster in einem Kreis durchrechnete.

Der Anteil der Registrierungen im gleichen Sektor wurde mit dem Anteil verglichen, der bei einer rein zufälligen Verteilung der Milben zu erwarten gewesen wäre.

Bei fünf von sechs Experimenten ergab sich mit dem Chi-Quadrat-Test keine signifikante Abweichung von der Zufallsverteilung. Nur in einem Fall waren die beiden Milben übermäßig häufig im selben Sektor.

Die Wechsel in den von der zweiten Milbe belegten oder in unbelegte Sektoren zeigen, daß die Milben sich auch nicht an der Position einer anderen zu orientieren scheinen.

• Duftstoffversuche

Ebensowenig konnte eine eindeutige Orientierung auf mögliche Duftstoffe bei 40 ausgewerteten *Varroa*-Läufer (je 15 min) nachgewiesen werden. Einer Kammerseite wurde Luft zugeleitet, die über Bienenlarfen, adulte Bienen oder andere Milben gezogen wurde.

3.3 Lokalisieren von Milben in verdeckelten Zellen

Für Untersuchungen der Populationsdynamik von *Varroa* wie auch bei den durchgeführten Versuchen wäre es vorteilhaft, Milben in verdeckelten Zellen zu orten, um sie genau zählen zu können. Hierfür wurden mehrere Möglichkeiten geprüft:

Bei hellem Wachs, also frischen Waben, können die dunklen Milben als Schatten auf dem Zelldeckel gesehen werden. Die üblichen Röntgengeräte bilden jedoch nur Kontraste unterschiedlicher chemischer Elemente ab. Bei druchsichtigen Mittelwänden sind die eingewanderten Milben anfänglich gut sichtbar am Zellenboden plaziert (BOOT, pers. Mittlg).

Bei der Protonenresonanzspektoskopie (NMR-Tomographie) werden Unterschiede im Wassergehalt sichtbar gemacht als unterschiedliche Farbstufen in einem anschließenden Bildgebungsverfahren. Am Lehrstuhl für Biophysik der Universität Würzburg (Dr. Erwin Kuchenbrod) nahmen wir Brutwabenstücken auf, die im Computer zu Schichten im Abstand von 0,8 mm zerlegt wurden. Die Auflösung reichte für den Kontrast zwischen Wachs, Luft, Kopf und Abdomen der Puppen, aber nicht für Milben.

4 Diskussion

Beim Vergleich der Vermehrungsrate von *Varroa jacobsoni* bei verschiedenen Rassen von *Apis mellifera* stellte man fest, daß die Verdeckelungsdauer mit der Vermehrungsrate positiv korreliert ist (MORITZ et HÄNEL, 1984; BÜCHLER et DRESCHER, 1990). Bestätigt wurde dieser Zusammenhang mit der Analyse von Brutzellen verschiedener Entwicklungsstadien, in denen parallel die Entwicklung von Bienenpuppe und *Varroa*-Nachkommen verfolgt wurde (LANGENBACH, 1993).

In der vorliegenden Versuchsreihe wurde die Frage bearbeitet, ob innerhalb der Rasse *Apis mellifera carnica* eine züchterisch verkürzte Verdeckelungsdauer einen nachweisbaren Einfluß auf den Reproduktionserfolg des Parasiten hat.

Entscheidend für die praktische Bienenhaltung sind jedoch die Verhältnisse innerhalb der Rasse *A. m. carnica.*

Die vorliegende Versuchsreihe gibt Hinweise darauf, daß innerhalb der Verdeckelungsdauer-Spanne dieser Rasse keine bedeutende Abhängigkeit des Reproduktionserfolges von Varroa von der Verdeckelungsdauer besteht.

Allerdings konnte aufgrund der begrenzten Zeit, Versuchsvölker zu finden, die Verdeckelungs-Spanne der *Carnica* nicht voll ausgeschöpft werden. Zudem

fiel die Streuung der ermittelten Reproduktionsdaten höher aus als erwartet, infolge der Schwierigkeit, altersmäßig einheitliche Brutwabenflächen zu gewinnen, so daß das Vergleichswäbchen im Milbenbefall etwas vom Schlupfwäbchen abwich.

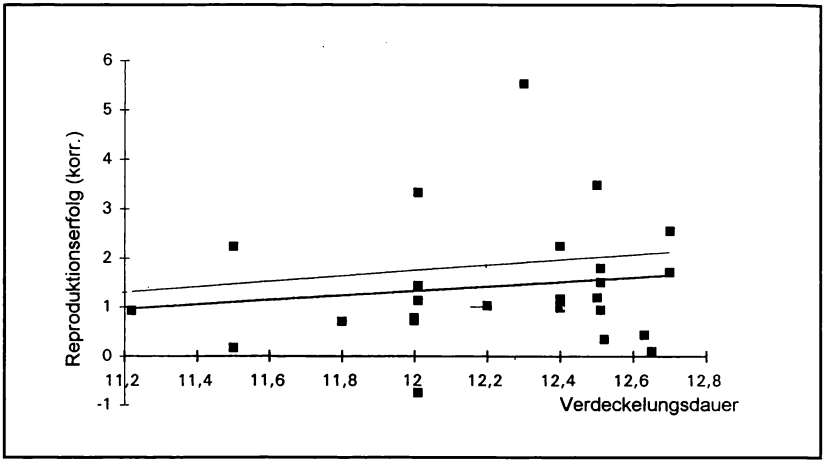


Abb. 10: Die ermittelten Reproduktionswerte in Abhängigkeit von der Verdeckelungsdauer mit der Regressionsgeraden (dicke Linie) und die Gerade nach LANGENBACH (1993) (dünne Linie)

Für populationsdynamische Untersuchungen wie in der vorliegenden Arbeit wäre eine Methode sehr vorteilhaft, den Befall von einzelnen Zellen genau festzustellen. Im weiteren Verlauf der Arbeit konnten hierzu mit NMR-Bildgebung einige Tests gemacht werden.

Nach den Ergebnissen von LANGENBACH (1993), die in Brutzellen bekannten Alters die *Varroa*-Nachkommen systematisch analysierte, ist in der Verdeckelungsdauer-Spanne der vorliegenden Arbeit nur eine Differenz von 0,72 Nachkommen zu erwarten. LANGENBACH (1993) faßt ihre Daten in einer Kurve zusammen, die man gut mit einer Gerade annähern kann. Diese Gerade hat eine ähnlich flache Steigung wie die Regressionsgerade der vorliegenden Versuchsergebnisse (Abb. 10).

Durch die diskreten Eiablagezeitpunkte sind die einzelnen *Varroa*-Nachkommen in ihrer Entwicklung verschoben. Der Schlüpfzeitpunkt betrifft je nach deren tatsächlicher Entwicklungsdauer vor allem den dritten weiblichen Nachkommen, aber auch den zweiten. Um die zweite Tochter in einem erheblichen Anteil der Brutzellen auszuschalten, ist eine erhebliche Verkürzung der

Verdeckelungsdauer nötig, wie sie nur im erwähnten *capensis*-x-*carnica*-Programm im Frühjahr und Frühsommer erreicht wurde.

MARTIN (1994) untersuchte mit derselben Methode wie LANGENBACH (1993) Brutzellen in verschiedenen Entwicklungsstadien und stellte fest, daß die Zahl der weiblichen Nachkommen, die die Entwicklung in verdeckelten Arbeiterinnen-Brutzellen mit einer Verdeckelungsdauer von 11,6 bis 12,0 Tagen abschließen können, gleichbleibend bei drei liegt.

Die gewonnenen Daten liefern weitere Hinweise für die Populationsdynamik von *Varroa*: Der Anteil der infertilen Milben liegt mit etwa 13% in dem Bereich, den verschiedene Autoren angeben. Die Faktoren, die die Infertilität bedingen, bleiben weiterhin im dunkeln (ROSENKRANZ et ENGELS, 1994). In den Tropen wurden Völker von *Apis mellifera* untersucht, in denen alle Milben ohne Nachkommen blieben. Diese wirtsbedingte Infertilität kann möglicherweise einen entscheidenden Beitrag zur *Varroa*-Toleranz leisten.

Entscheidend für das Populationswachstum ist auch die Anzahl der Reproduktionszyklen, die eine Milbe in ihrem Leben durchlaufen kann. eine Milbe kann bis zu acht mal reproduzieren (ROSENKRANZ et ENGELS, 1994; FRIES et al., 1994).

Bei Völkern mit kürzerer Verdeckelungsdauer wird der Verdeckelungszeitpunkt später erreicht. Möglicherweise ist dann die Zahl der für die Invasion zur Verfügung stehenden Zellen relativ größer, und *Varroa* könnte einen schnelleren Generationszyklus-Umsatz machen. Zudem könnte die Verkürzung der Verdeckelungsdauer weitere Einflüsse auf das Volksverhalten und dessen wirtschaftliche Eigenschaften haben, die erst noch untersucht werden müssen.

Die Messungen zeigen weiterhin die ausgeprägte jahreszeitliche Abhängigkeit der Verdeckelungsdauer. SCHOUSBOE (1990) weißt ebenfalls eine Verzögerung im Spätsommer nach, und während Trachtausfall im Sommer. Die Zunahme der Verdeckelungsdauer geht einher mit der Abnahme der Brutnesttemperatur. Auch Rosenkranz berechnete Unterschiede von 0,15oC mit 2 h Unterschied in der Entwicklungszeit als statistisch signifikant.

Für die Verdeckelungsdauer ist ebenso ein genetischer Einfluß nachgewiesen (MORITZ, 1985). Die Verkürzung der Verdeckelungsdauer, die nötig wäre für eine erhebliche Einschränkung der Chancen des zweiten weiblichen Nachkommens, könnte wahrscheinlich nur mit aufwenigen Zuchtprogrammen erreicht werden. Diese Programme müssen dem Problem Rechnung tragen, daß über kurz oder lang die genetische Varianz augeschöpft ist, und sie zusätzlich zu Inzucht führen. Nur mit der Bündelung von mehreren resistenzbedingenden Merkmalen wie dem Ausräumverhalten (BOECKING, 1994) und dem

Putzverhalten kombiniert mit bio-technischen Bekämpfungsmaßnahmenwird man auf Chemotherapeutika verzichten können.

Der Invasionsvorgang der *Varroa* in die Brutzellen war bereits Gegenstand verschiedener Untersuchungsmethoden. So wurden verschiedene Momentaufnahmen gemacht (GOETZ, 1993) wie Brutentnahme in verschiedenen Stadien und deren statistische Auswertung auf Befall.

Ich konnte Milben beim Übergang Zellrand/Larve bzw. mobile/sessile Phase beobachten.

Beim Ablaufen der Zellränder orientieren sich die Milben mög-licherweise, um sicherzustellen, daß sie im richtigen Wabenbereich sind. Die Milben könnten die Kairomone verschiedener Larven vergleichen und die Breite des Zellrandes als Signal perzipieren, denn der wird ab einigen Stunden vor Verdeckelung zunehmend von den Ammenbienen verdickt. Nach der Befallsauswertung von Zellen unterschiedlicher Tiefe durch GOETZ (1993) können die Milben offenbar verschiedene Zelltiefen feststellen. Allerdings vergleichen die Milben nicht verschiedene Zelltiefen durch Ablaufen der Zellwände vom oberen Rand bis zur Larve, sondern bleiben zunächst für ausgiebige Läufe auf den Zellrändern.

Die Ablaufhäufigkeiten der Milben über die Zellen zeigen, daß die Milben manche Zellen bevorzugen, die wahrscheinlich näher vor der Verdeckelung sind. Die ungleiche Attraktivität von Zellen könnte die Abweichung von der Zufallsverteilung in Richtung häufigerer Mehrfachbefalle erklären, ohne daß die Milben eine gegenseitige Attraktivität besitzen müßten.

Die Ergebnisse von LANGENBACH (1993) zeigen, daß Mehrfachbefall einen Nachteil bedeutet, denn die Nachkommenzahl pro Mutter fällt geringer aus als bei Einfachbefall. Die Arbeit von BOECKING (1994) zeigt einen weiteren Nachteil: mit zunehmenden Mehrfachbefall steigt die Wahrscheinlichkeit, daß die Arbeiterinnen die Zelle als erkrankt erkennen und ausräumen. Im Zusammenhang der Evolution betrachtet, ergibt sich aber ein wichtiger Vorteil im Mehrfachbefall: Nachdem die Töchter noch in der Zelle von Männchen derselben Generation begattet werden, ergibt sich die Möglichkeit der Paarung mit nicht verwandten Artgenossen (KIRCHNER, pers. Mttlg).

Die Relevanz dieses Outbreeding wird von der Beobachtung der gemeinsamen Paarungsplätze von DONZE und GUERIN (1994) unterstützt, wo sich die Nachkommen zweier nicht verwandter Mütter vermischen können.

Dagegen decken sich die Zellbefallszahlen von CALATAYUD (zit. nach REICH et al., 1994) bei Brut, die in ihrem Alter sehr einheitlich ist, gut mit der geometrischen Verteilung, ein Hinweis, daß innerhalb einer Brutfläche die Zellen zufällig ausgewählt werden.

Die Bedeutung von Geruchsfaktoren wurde in Duftstromkammern untersucht. Hier ergab sich insgesamt keine Abweichung vom Zufallslauf. In Y-Olfaktometern konnte ein schwacher Orientierungseffekt zu Bienen und Larven statistisch nachgewiesen werden, die mit einigen ätherischen Ölen gestört werden konnte (KRAUS, 1990).

Chemische Stimuli mit einer Richtungsinformation sind ohnehin schwer vorstellbar in einem Bienenstock infolge der Turbulenzen durch O_2-Verbrauch und Wärmeaustausch. Sicher sind die Milben eher auf Chemokontaktperzeption angewiesen (KOENIGER, pers. Mittlg.). Möglicherweise diffundiert ein Teil der lipophilen Kairomone an der Wachsoberfläche von der Larve zum Zellrand.

Bei vielen Arten haben Nachkommen eine beschränkte Zeit, das Adultstadium zu erreichen. In den gemäßigten Breiten ist eine Anpassung des Reproduktionszyklus an die Länge der günstigen Jahreszeit häufig. BLANCKENHORN (1990) beobachtete in einem wärmeren Bach bei Wasserläufern (*Aquarius remigis*) zwei Generationen im Jahr, im kalten Bach dagegen nur eine. Im einen Fall überwindern die frühsommerlichen Nachkommen, im anderen pflanzen sie sich direkt fort.

Diese alternativen Strategien bedeuten jeweils entsprechend angepasstes Verhalten, wie Territorialität und höherer Beutefang-Erfolg, im Fall der überwinternden (BLANCKENHORN et PERNER, 1996). Das entsprechende Verhalten zeigt sich bereits zu Beginn der Adultphase.

Ein derartig differenziertes angepasstes Verhalten fehlt bei *Varroa*. Die Milben zeigen immer die gleiche Eiabfolge, auch wenn spätestens der vierte weibliche Nachkomme keine Überlebenschance hat.

7 Literatur

BALL, B. V. (1985):
Acute paralysis virus isolates from honeybee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. J. Apic res. **24**: 115–119.

BLANCKENHORN, W. U. (1990):
Fitness consequences of foraging success and life history tactics in water striders, *Aquarius remigis*. (Dissertation, State University of New York at Albany, Albany NY, USA)

BLANCKENHORN, W. U., PERNER, D. (1994):
Heritability and repeatability of behavioral attributes affecting foraging succes and fitness in water striders. Animal Behavior **48**: 169–176.

BLANCKENHORN, W. U., PERNER, D. (1996):
Life-history dependent behavioral Variation in Water striders, *Aquarius remigis*. Ethology, (im Druck).

BOECKING, O. (1994):
Das Ausräumverhalten von *Apis mellifera* gegenüber Milben-infizierter Brut (Dissertation Univ. Bonn).

BÜCHLER, R., DRESCHER, W. (1990):
Variance and Heritability of the capped developmental stage in European *Apis mellifera* and its correlation with increased *Varroa jacobsoni* infestation. J Apic Res. **29(3)**: 172–176.

DE JONG, D., DE JONG, P. H., CONCALVES, L. S. (1982):
Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. J. Apic Res. **21**: 165–167.

DONZE, G., GUERIN, P. M. (1994):
Behavioral attributes and parental cara of *Varroa* mites parasitizing honeybee brood. Behav Ecol Sociobiol **34**: 305–319.

FRIES, I., CAMAZINE, S., SNEYD, J. (1994):
Population dynamics of *Varroa jacobsoni*. A model and a review. Bee World **75(1)**: 5–28.

FUCHS, S. (1985):
Untersuchungen zur quantitativen Abschätzung des Befalls von Bienenvölkern mit *Varroa* und zur Verteilung des Parasiten im Volk. Apidologie **16**: 343–368.

FUCHS, S. (1992):
Choise in *Varroa jacobsoni* between honeybee drone or workerbrood cells for reproduktion. Behav Ecol Sociobiol.. **31**: 429–435.

FUCHS, S., LANGENBACH, K. (1989):
Mehrfachbefall und Reproduktion von *Varroa* in Brutzellen von *A. mellifera*. Apidologie **20**: 257–266.

GOETZ, B., KOENIGER, N. (992):
Structural features trigger capping of brood cells in honey bees. Apidologie **23**: 211–216.

GOETZ, B., KOENIGER, N. (1993):
Strukturmerkmale beeinflussen die Brutinvasion von *Varroa jacobsoni*. Apidologie **24**: 67–72.

KIRCHNER, W. H. (1993):
Lichtsinn und Vibrationssinn der *Varroa*-Milbe. Apidologie **24**: 490–491.

KOENIGER, N., FUCHS, S. (1988a):
Control of *Varroa*: Current status and development in africanized bees. In: NEEDHAM, G. R. et al. Africanized honeybees and bee mites. Ellis Horwood Ltd, Chichester, London: 360–369.

KOENIGER, N., FUCHS, S. (1988b):
Control of *Varroa* in Colonies containing sealed brood cells. Apidologie **19(2)**: 117–129.

KRAUS, B. (1990):
Olfaktorische Orientierung und deren Störung durch ehterische Öle bei *Varroa jacobsoni* (Dissertation, Univ. Frankfurt).

KULINCEVIC, K. M., RINDERER, T. E. (1988a):
Breeding honeybees for resistance to *Varroa jacobsoni*: analysis of mite population dynamics.
In: NEEDHAM, G. R., et al.: Africanized honeybees and bee mites. Ellis Horwood Ltd, Chichester, London 434–443.

LANGENBACH, K. (1993):
Variabilität der Verdeckelungsdauer von Arbeiterinnen-Brutzellen und Auswirkung auf die Reproduktion des Brutparasiten *Varroa* (Dissertation, Univ. Frankfurt).

MARTIN, S. J. (1994):
Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker brood oft the honeybee *Apis mellifera* under natural conditions. Exp & App. Aca. **18(2)**: 87–100.

MORITZ, R. F. A. (1985):
Heritability of the postcapping stage in *Apis mellifera* and its relation to varroatosis resistance. The Journal of heredity **76**: 267–270.

MORITZ, R. F. A., HÄNEL, H. (1984):
Restricted development of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* in the Cape honeybee. Z. Angew. Entomol. **97**: 91–95.

OTTEN, C., FUCHS, S. (1988):
Individual differences of *Varroa* of preference for drone to worker larvae.
In: CAVALLORO, R. (ed): Proc. of a meeting of the EC-Experts Group; Udine, Italy 69–72.

OTTEN, C. (1989):
A comparsion of *Varroa* population dynamics in different subspecies of *Apis mellifera*.
In: CAVALLORO, R. (ed): proc of a meeting of the EC-Experts Group; Udine, Italy 101–106.

PENG, Y. S. (1988):
The resistance mechanism of the Asian honeybee (*Apis cerana*) to the mite *Varroa jacobsoni*.
In: NEEDHAM, G. R., et al.: Africanized honeybees and bee mites. Ellis Horwood Ltd, Chichester, London: 426–429.

PERNER, M., PERNER, S., KRÄMER, A. (1992):
Varroa-Resistenzzüchtung, Überlegungen und erste Erfahrungen mit Hilfe der instrumentellen Besamung. Mitteilungen über Bienenbesamung **4(2)**: 9–11.

RADEMACHER, E., GEISELER, E. (1990):
Die Varroatose der Bienen. 4. Auflage; Schelzky & Jeep, Berlin.

REICH, S. E. et al.: (1994):
Mit *Varroa* rechnen. Die Biene 8/94 S. 460–464.

RITTER, W. (1988):
Medications registered in Western Europe for Varroatosis control. Apidologie 19: 113–116.

RITTER, W., DEJONG, D. (1984):
Reproduction of *Varroa jacobsoni* in Europe, the Middle East and tropical South America. Z.ang.Ent. **98**: 55–57.

ROSENKRANZ, P., ENGELS, W. (1985):
Konsequente Drohnenbrutentnahme, eine wirksame Maßnahme zur Minderung von Varroatose-Schäden in Bienenvölkern. ADIZ **19**: 265–271.

ROSENKRANZ, P. ENGELS, W. (1994):
Unfruchtbarkeit von *Varroa*-Weibchen nach Invasion als Toleranzfaktor gegenüber der Varoatose. Apidologie **25**: 402.

RUTTNER, F., RITTER, W. (1980):
Das Eindringen von *Varroa jacobsoni* nach Europa im Rückblick. Allgemeine Deutsche Imkerzeitung **14** (5/1980): 130–133.

RUTTNER, F., HÄNEL, H. (1992):
Active defense against *Varroa* mites in a Carnolian strain of honeybees. Apidologie **23(4)**: 173–187.

SCHNEIDER, P., DRESCHER, W. (1987):

Einfluß der Parasitierung durch die Milbe *Varroa jacobsoni* auf das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera*. Apidologie **18**: 101–110.

SCHOUSBOE, C. (1990):
Seasonal variation in duration of capped stage in worker bee brood. Tidsskr.for Biavl. **124**: 50–52.

Anschrift des Verfassers:
Dipl.-Biol. Dirk Perner
Rückertstraße 3
D-97828 Marktheidenfeld

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins Würzburg

Jahr/Year: 1996-1997

Band/Volume: 37-38

Autor(en)/Author(s): Perner Dirk

Artikel/Article: Invasionsverhalten und Reproduktionserfolg der Milbe Varroa jacobsoni in Abhängigkeit zur Zellverdeckelungsdauer der Honigbiene Apis mellifera 131-163